VOL. II. FASC. II.

HAEMATOLOGICA

ARCHIVIO ITALIANO DI EMATOLOGIA E SIEROLOGIA

PVBBLICATO DA

A. FERRATA E C. MORESCHI

458

Istituto di Patologia Generale ed Istologia dell' Università di Pavia

Contributo allo studio delle alterazioni degli elementi del sangue in diversi stati patologici

(con le tavole XXIV *e* XXV*)*

per la dott.ssa **Costanza Boccadoro**

Aprile 1921

SANGVIS·VITA·VITAE·

·PEI TIPI DI N. JOVENE & C.-NAPOLI·

NORME PER GLI AUTORI

La collaborazione di **Haematologica** ha raggiunto un grado tale da richiedere la pubblicazione di almeno 2 volumi annui di 500 pagine ognuno. Per questo motivo nell' interesse di una sollecita pubblicazione gli autori sono pregati di essere brevi e concisi nella esposizione dei loro lavori.

Letteratura, note di tecnica, reperti anatomo-patologici ecc. verranno stampati in corpo piccolo, anche se i manoscritti arrivassero senza indicazione in proposito.

Le memorie devono essere assolutamente originali, si fa solo eccezione per le note preventive comunicate alle Società mediche ed Accademie.

Benchè la pubblicazione di 2 volumi in una annata elevi il costo di **Haematologica** ad una cifra assai rilevante, la redazione non verrà meno al programma impostosi di pagare le tavole agli autori. Anche a questo proposito si rimette però alla discrezione dei collaboratori: le tavole devono dimostrare particolarità degne di nota, non riprodurre fatti morfologici già illustrati, possibilmente non superare il numero di due.

I collaboratori vorranno attenersi alle norme esposte, più che giustificate dalle attuali difficoltà.

Haematologica conta anche sui collaboratori per la diffusione dell'Archivio: il prezzo di abbonamento è di proposito assai tenue se si tien conto del tipo della pubblicazione, e ciò per facilitarne il collocamento presso gli Istituti, le biblioteche ed i medici pratici.

Al Chiarissimo Prof. Ciofoa
per omaggio
Costanza Boccadoro

Istituto di Patologia Generale ed Istologia dell' Università di Pavia

Contributo allo studio delle alterazioni degli elementi del sangue in diversi stati patologici

(*con le tavole* XXIV *e* XXV)

per la dott.ssa **Costanza Boccadoro**

Introduzione

Nella seduta della Soc. Med. Chirurg. del 12 giugno 1919 il Prof. Golgi nella sua comunicazione: " Sulla struttura dei globuli rossi dell' uomo e di altri animali „ dopo aver descritta una: " .... speciale reazione in cui viene osservata... una circoscritta zona centrale tondeggiante, a limiti netti, di aspetto ora finamente punteggiato, ora con accenno a striatura ed a costituzione tenuissimamente fibrillare, nega assolutamente che questa sia una reazione di sostanza nucleare.

L' Autore mette poi in evidenza un' altra fine particolarità di organizzazione e cioè la presenza del centrosoma nei globuli bianchi. Dopo l' esposizione dei fatti rilevati mediante la delicata reazione che descrive il Prof. Golgi a conclusione ha fatto la seguente osservazione di carattere generale dicendo come: " ...chi è abituato a vedere sempre dei possibili punti di contatto tra i fatti che si svolgono nella biologia normale e quelli che possiamo sorprendere nella biologia patologica, non può non imporsi subito il quesito se la fine particolarità di struttura degli elementi del sangue, come quella che coi procedimenti che hanno condotto a questo studio tanto facilmente si può mettere in luce, abbia un riscontro nel sangue degli stati patologici „.

Ho cercato di seguire questa indicazione prefiggendomi di

Il presente lavoro è stato comunicato in riassunto alla Soc. Med. Chirurg. di Pavia nella seduta del 9 luglio 1920.

impostare lo studio dal doppio punto di vista , quello sperimentale sugli animali e quello dell' osservazione clinica nella misura a me possibile. Come ebbi occasione già di accennare nella seduta stessa del 12 giugno 1919, avendo avuto l' opportunità di seguire molto da vicino tali studi sulla struttura dei globuli rossi nel sangue normale, ebbi subito il desiderio di affrontare la questione dal punto di vista accennato, e di entrare, applicando questi procedimenti nel campo della patologia del sangue , coll' intento di ricercarne questi stessi reperti , o qualche loro eventuale modificazione, il che potrebbe avere, come credo, speciale interesse anche dal punto di vista scientifico e forse anche da quello scientifico clinico.

Pur avendo ottenuto qualche risultato nello svolgimento di queste ricerche io mi sento ancora ben lontana dall'avere assolto il compito molto complesso che io stessa mi ero proposta.

Anzi entrando nello studio dell' argomento ho dovuto convincermi che si tratta di ricerche che si estendono su così larga scala che difficilmente si potrà porre ad esse un limite ; pure si è venuto in me rafforzando il convincimento che le osservazioni sulle varie forme di sangue patologico, condotte anche eon questi più fini e speciali metodi di tecnica, potranno portare un contributo, per quanto piccolo, di qualche interesse riguardo allo studio delle alterazioni degli elementi del sangue in diversi stati patologici.

È perciò che io mi permetto ora comunicare i risultati che fino ad ora ho potuto ottenere, riservandomi una più completa e minuziosa esposizione analitica a quando avrò potuto esaminare un più largo campo di osservazioni.

Materiale di ricerca. — Oggetto delle mie ricerche fu:

I. Il sangue di anemie sperimentali ottenute su animali da Laboratorio.

II. Il sangue di alcuni malati — casi clinici — presentanti stati patologici del sangue.

Gli animali da Laboratorio sono stati anemizzati sperimentalmente :

a) con ripetuti salassi

b) con iniezioni sottocutanee di alcuni veleni emolitici (e più specialmente colla pirodina).

Il sangue di ammalati, tanto adulti che bambini, è stato preso da individui ricoverati nelle nostre Cliniche e presentanti un' alterazione del sangue in rapporto a diverse forme morbose

Le emopatie che ho avuto occasione di studiare sono: anemie sia primarie che secondarie e cioè: alcune forme di clorosi, un caso di porpora emorragica, anemie acute e profonde per forti emorragie, anemie per carcinoma, tubercolosi, nefriti, elmintiasi, achilostoma duodenalis, anguillula intestinalis, influenza.

Su di un caso di anemia perniciosa e di uno di grave anemia aplastica i reperti richiedono ulteriori osservazioni.

E qui devo ringraziare vivamente i Proff. Zoja, Alfieri, Riva-Rocci della loro gentilezza nel mettere a mia disposizione i loro malati per la raccolta del sangue.

Nel corso delle ricerche non ho mancato di considerare la eventualità che esistessero rapporti tra il sangue di alcuni casi clinici col sangue di animali sperimentalmente anemizzati.

Durante il corso di queste mie ricerche parecchie furono le difficoltà, qualche volta non lievi, che ho incontrato. Esse sono così di ordine tecnico come di ordine clinico: le prime si riferiscono così al delicato e spesso non facile procedimento di tecnica, come anche alla difficoltà di interpretazione dei reperti che talvolta non sono che tenui sfumature; le difficoltà di ordine clinico si riferiscono specialmente alla impossibilità di poter sempre disporre di quello speciale sangue di malato che in quel momento interesserebbe per quella data ricerca. Una reazione ottenuta in un preparato richiederebbe una controprova, ma questa non si può sempre fare per le mutate condizioni del malato che qualche volta è guarito e già uscito dall'ospedale oppure presenta, rispetto al sangue altre note differenti da quelle che presentava nella prima prelevazione del materiale.

Metodo di tecnica. — I metodi che ho usato per l' esecu-

zione dei miei preparati sono quegli stessi descritti dal prof. GOLGI parte nella seduta del 12 giugno 1919 e parte in " Haematologica „ III Fascicolo del Vol. I.

Non credo superfluo, tuttavia, riassumerli brevemente.

Le fini particolarità di struttura del sangue in istato patologico, di cui mi sono occupata, possono essere ricercate:

I. con preparati a secco per striscio.

II. con preparati di elementi del sangue liberi e sospesi in un liquido.

I. *Dei preparati per striscio.* — *a*) alcuni immergevo in una miscela a parti uguali di bicloruro di mercurio e bicromato di potassio (Bicloruro al 2 °/₀ — Bicromato al 2 °/₀). Dopo 24 ore cambiavo il liquido e aggiungevo 5 °/₀ di cloruro d'oro in soluzione all' 1 °/₀.

b) altri preparati immergevo direttamente nella miscela picrica (sublimato 2 °/₀ — acido picrico soluzione satura p. uguali cloruro d' oro 1 °/₀ parti 1/₂ °/₀).

c) altri strisci, ancora, (ma questi solo a scopo di controllo) coloravo coi comuni metodi del GIEMSA o meglio MAY-GRUNWALD GIEMSA, o coll' ematossilina ferrica di HEIDENHAIN.

II. Per ovviare alle possibilf alterazioni che possono essere provocate per il disseccamento e per tutte le manipolazioni inevitabili per eseguire un preparato di sangue per striscio, praticavo, io pure, preparati diversi di sangue, sospeso in liquidi diversi, che elenco qui sotto:

1° — Bicromato K 1 1/₂ — sublimato 1/₂ °/₀ — parti eguali—

2° — Bicromato K 2 °/₀ — sublimato 2 °/₀ — parti eguali —

3° — Bicromato K 1 1/₂ °/₀ sublimato — 1 °/₀ parti eguali—

4° — Bicromato K 1 1/₂ — Cloruro plat. 1°/₀ 7–8 gocce su 20 cc. di Bicromato — ac. osmico 2-3 gocce.

6° — Miscela picrica — sublimato 2 °/₀ — ac. picrico soluzione satura p. uguali — cloruro d' oro 1 °/₀ — 1 gocce su 30 cc. di miscela di sublimato e ac picrico.

Dopo una permanenza di alcuni giorni in ciascuno di questi liquidi (tranne il 6 che è già completo di per sè stesso) portavo un po' di questo materiale in eguale miscela a cui era stato aggiunto qualche goccia di cloruro d'oro all' 1 °/₀.

Allo speciale scopo di mettere in evidenza un'altra fine particolarità di struttura dei globuli rossi, pure descritta dal prof. Golgi in una seduta all' Istituto Lombardo di Scienze e Lettere e cioè la presenza del centrosoma, ho usato di un altro metodo di tecnica, il metodo al nitrato d'argento.

Una parte del materiale trattato colle miscele di bicromato sublimato, dopo accurato lavaggio, portavo con una pipetta in una soluzione di nitrato d' argento all' 1 o al 2 °/₀.

Questa soluzione d' argento ha lo scopo essenziale di mettere in evidenza nei globuli rossi dei granuli speciali, che come vedremo più avanti devono considerarsi come centrosomi.

La caratteristica reazione con l' oro di solito comincia al 2° giorno e deve essere sorvegliata continuamente, giorno per giorno al microscopico e talvolta anche più volte nello stesso giorno, arrestandola quando si è raggiunto la finezza di reazione desiderata.

Nella soluzione d' argento, invece, la reazione caratteristica avviene sull' istante, e si possono pure fare preparati estemporanei, che poi, sostituendo una goccia di glicerina al liquido di sospensione, si possono anche conservare.

Dovrei qui fare un'osservazione di carattere generale rispetto al metodo e cioè che, mentre da una parte questo rappresenta un mezzo veramente prezioso per mettere meglio in evidenza le fini particolarità di struttura dei globuli del sangue, d'altra parte, almeno per ciò che riguarda il sangue patologico, si deve considerare ancora con un pò di elasticità, dovendosi ricercare per ogni specie e per ogni alterazione di sangue il grado dovuto di concentrazione, sia riguardo ai diversi liquidi, sia riguardo alle

proporzioni dei componenti le diverse miscele; per esempio per il sangue di anchilostomanemia e per quello di una grave anemia in un bambino affetto da anguillula intestinalis, la miscela n.° 2 è troppo concentrata, i globuli rossi si raggrinzano, si deformano. Sono da preferirsi miscele più deboli. Nei diversi stati patologici del sangue occorre saggiare il grado di concentrazione di liquido che meno disturba l'osmosi dei globuli rossi.

Anemie sperimentali

Anemie sperimentali per ripetuti salassi. — Al fine di ottenere sperimentalmente uno stato anemico del sangue, cominciavo col provocare ripetute sottrazioni sanguigne in alcuni animali da laboratorio : cavie, conigli, topi, gatti ecc.

Ad intervallo di alcuni giorni praticavo salassi piuttosto abbondanti, salassi che continuavo, a periodi diversi, fino alla morte dell' animale.

Tanto subito dopo ogni salasso, come pure il giorno seguente raccoglievo il sangue nei diversi reattivi, non trascurando di eseguire anche alcuni preparati a secco per striscio , di cui alcuni coloravo con May-Grünwald secondo Pappenheim, con Romanowsky , con ematossilina ecc., colorazioni queste che praticavo solo allo scopo di avere una conoscenza dello stato generale del sangue. Questi preparati possono fornire, in qualche modo, anche un criterio per giudicare del grado di anemia raggiunto. Ho così constatato che dopo le prime sottrazioni sanguigne si provocava nel sangue uno spiccato aumento nel numero delle piastrine, notevole leucocitosi con aumento dei neutrofili, inoltre grande numero di eritrociti policromatici. Incidentalmente osservo , senza soffermarmi sulla quistione, che la policromasia sarebbe l'indice della presenza in circolo di forme giovani immature, con diminuzione dell' indice di colorazione, essendo più rapida la produzione cellulare che non quella dell' emoglobina.

Solo dopo ripetuti salassi erano presenti cellule immature

della serie emoglobinica : eritroblasti policromatofili e basofili, eritrociti con granulazioni basofile ecc., esistevano insomma i caratteri di immaturità del sangue.

Di fronte alle reazioni con l'oro , descritte dal GOLGI , reazioni che mettono in evidenza nella parte centrale degli eritrociti un corpo, o meglio una zona, così detta di apparenza nucleare, gli eritrociti si comportano in un modo caratteristico.

La reazione centrale dei globuli rossi , limitata nel sangue di coniglio normale e dopo il primo salasso a circa un terzo del globulo rosso , mano a mano che si insiste nelle sottrazioni di sangue , si va estendendo verso la periferia , fino ad occupare, come negli eritrociti del sangue embrionale, quasi tutto il globulo rosso , rimanendo limitata a un piccolo orlo la zona emoglobinica periferica, che si presenta sempre liscia, omogenea.

La parte interna del globulo, che reagisce, assume un aspetto violaceo e presenta una struttura finemente fibrillare , con qualche granulo intercalato qua e là senza una disposizione fissa.

Si notano in moltissimi , se non in tutti , gli eritrociti dei granuli speciali, che si trovano ora nella zona emoglobinica, ora nell' interno. Questi granuli, come quelli già notati dal Prof. GOLGI uel sangue normale potrebbero riferirsi ai granuli che come dirò si possono meglio mettere in evidenza col procedimento al nitrato d'argento e che devono essere interpretati come centrosomi.

A proposito di questa particolarità di struttura dei globuli bianchi e rossi , la presenza cioè dei centrosomi , non mi pare superfluo rilevare che questo è un argomento di studio di tutta attualità.

Nei globuli bianchi del sangue circolante normale è stato trovato il centrosoma dal GOLGI che così lo descrive :

" L' organo in questione , rappresentato da 1 , 2, 3 piccoli granuli, uno dei quali di solito è più grande, trovasi non costantemente , ma con frequenza notevolmente maggiore , nel che si ravvisa una delle sue note caratteristiche, nella parte del proto-

plasma che nei globuli bianchi con nucleo a ferro di cavallo o altrimenti incurvato, è compreso nella curva del corpo nucleare „.

Oltre che nei globuli bianchi anche nei globuli rossi nucleati e non nucleati del sangue circolante la presenza del centrosoma è stata dal Prof. Golgi dimostrata quale " normale carattere di struttura dei globuli rossi „.

Secondo il Golgi il modo di presentarsi della proprietà istologica suaccennata, " assolutamente nulla presenta di speciale, anzi la documentazione del fatto consiste nella corrispondenza della particolarità descritta con i caratteri che sono generalmente ritenuti propri di quell' importante organo cellulare che indicasi quale centrosoma „. E più avanti l' Autore nota come la situazione del centrosoma entro il globulo non è costante: " i due granuli appaiati talora sono situati in prossimità della periferia del globulo, entro la zona emoglobinica.... oppure si trovano al centro del globulo... „.

Anche questa particolarità di struttura (centrosoma) ho fatto oggetto di ricerche accurate nei riguardi di questa forma di anemia provocata da ripetute sottrazioni di sangue.

Nei globuli bianchi e in modo speciale nei leucociti polinucleati il centrosoma si presenta per la maggior parte con una netta evidenza sotto forma di uno o due o più, o un piccolo gruppo di granuli neri, circondati da un alone chiaro; queste formazioni per il loro aspetto, per la loro forma, grandezza, posizione, numero, per la zona chiara che le circonda, anche per lo stato patologico in esame devono ormai ascriversi senz' altro ai centrosomi.

Con speciale chiarezza il Prof. Golgi ha verificato la presenza dei centrosomi nei globuli in cui si è svolto il fenomeno di Maximow.

Il fenomeno di Maximow fu osservato prima da Wlassow, ma venne meglio illustrato poi da Maximow e ora recentemente riscontrato e studiato anche dal Golgi. Anche Petrone ha verificato un reperto che in qualche modo potrebbe essere riferito

al fenomeno di MAXIMOW: le varie sue interpretazioni spiegano come questo accenno non abbia trovato conforto nelle osservazioni di altri ricercatori.

Il GOLGI descrive il fenomeno dì MAXIMOW come una " regolare emersione dai contorni dei globuli rossi di sporgenze omogenee e finemente granulose, rotondeggianti, ovali, piriformi, peduncolate e che non di rado si staccano diventando libere „. Il globulo rosso così modificato si presenta piuttosto globoso: nell'interno si osserva una zona liscia e omogenea che occupa circa la metà del globulo, adiacente all' appendice, che qualche volta, negli stadii più avanzati di anemia, non è unica, ma accompagnata da una o due o anche tre altre sporgenze, sempre però più piccole della maggiore. Per l'altra metà l'emazia è piuttosto finemente granulosa.

Nei limiti tra la zona liscia e la sostanza granulosa talvolta i granuli finissimi si dispongono in modo da simulare una frangetta.

Tanto il gavocciolo che sporge, quanto la zona liscia rifrangente, si colorano intensamente in rosso con il rosso BORDEAUX, e tanto più intensamente se il sangue ha subito prima per qualche ora l' azione di un mordente, quello da noi usato più specialmente è l' allume ferrico ammoniacale.

Il rosso BORDEAUX colora istantaneamente dapprima solo l'appendice di MAXIM W ma si diffonde poi a poco a poco al resto del globulo.

Nei gradi più avanzati di anemia sperimentale di cui mi occupo, questa appendice ha una speciale tendenza a distaccarsi dal globulo ed è facile trovare questi corpicciuoli rotondeggianti, distaccati, liberi nel preparato.

MAXIMOW dava a questi corpi il significato di piastrine e spiegava così l' origine delle piastrine dai globuli rossi. Certo l' idea sarebbe suggestiva, ma sarebbe per ora azzardata un'ipotesi in questo senso, allo stato attuale delle conoscenze.

Nei globuli rossi del sangue di questi animali resi anemici

in seguito a ripetuti salassi, dopo accurato lavaggio, sottoposti all'azione del nitrato d' argento in soluzione all' 1 °/₀, oltre il fenomeno di MAXIMOW, si possono osservare due granuli rotondeggianti che spiccano nettamente sul fondo giallognolo del globulo, colorati in nero intenso, qualche volta avvicinati, ma per lo più posti a una certa distanza l' uno dall' altro, circondati da un' areola chiara (V. fig. 1, tav. XXIV).

Nei gradi più avanzati di anemia ho trovato con una certa frequenza uno di questi granuli situato dentro l' appendice di MAXIMOW.

Nella miscela composta di bicromato e cloruro di platino il globulo rosso diventa quasi tutto granuloso; solo una piccola zona liscia, a forma di lunetta, è spinta alla periferia, senza però mandare quasi mai sporgenze all'esterno.

Anemie per emolisi (avvelenamento da pirodina). — Un secondo gruppo di ricerche sperimentali che sono state oggetto delle mie osservazioni è rappresentato dagli avvelenamenti di animali con sostanze emolitiche (e più specialmente con pirodina).

Allo scopo di studiare dallo speciale punto di vista di questi nuovi metodi il sangue di animali resi anemici anche per l'azione di speciali sostanze tossiche che agissero come veleni emolitici, io ho iniziato una serie di esperienze su animali da Laboratorio trattandoli con opportune iniezioni di pirodina.

Queste anemie sperimentali vennero spesso prodotte anche allo scopo di studiare il meccanismo delle malattie spontanee dell' uomo. Si usarono oltre che la pirodina, la fenildiamina, la toluilendiamina, la saponina ecc.

Io ho fatto esperienze su cavie, conigli, topi, gatti e ho usato più specialmente soluzioni di pirodina all' 1 o al 2 °/₀. Ho provato con iniezioni sottocutanee sia a piccole dosi e ripetute come a forti dosi in una sola volta. Avendo presente le osservazioni di FOTI sulla genesi delle piastrine che dice di aver ottenuto dopo tre, quattro ore dall' iniezione, la massima piastrinosi pro-

prio quando si ha la crisi eritrodistruttrice la più forte, ho saggiato il sangue sia dopo un' ora o poche ore, anche prefiggendomi di avere preparati in corrispondenza con la maggiore crisi eritrodistruttrice, come anche dopo uno o due o più giorni. In alcuni casi ho insistito con le iniezioni fino alla morte dell'animale.

Le rigenerazioni che si ottengono dopo l'avvelenamento con queste sostanze sono più rapide che non dopo i salassi. Nel periodo della rigenerazione si trovano di solito eritrociti policromatici, macrociti, eritroblasti, eritrociti con granuli basofili, eritrociti con sostanza granulo-filamentosa.

Nelle reazioni con l'oro la parte interna degli eritrociti non si comporta ugualmente in tutti i globuli rossi. Mentre in alcuni la reazione è diffusa alla maggior parte del globulo rosso, lasciando libero solo un piccolo orlo emoglobinico periferico, in altri la reazione è forse più intensa, ma limitata solo a una piccola parte centrale (V. fig. 2, tav. XXV).

L' aspetto d' insieme dà l' impressione che si tratti di una struttura più finemente fibrillare, o granulo-fibrillare, che non nel sangue delle altre forme di anemie.

Anche il protoplasma dei globuli bianchi è finemente granuloso con finissime fibrille intercalate.

Sono qualche volta bene evidenti i granuli che stanno a rappresentare i centrosomi. Anche nei globuli rossi trattati col nitrato d'argento sono evidenti i centrosomi, alcuni circondati da una molto netta areola chiara.

Specialmente nel sangue di gattini trattati con forti dosi di pirodina, nei preparati che presentano evidente il fenomeno di Maximow, ho notato che oltre l'appendice principale esistono in moltissimi globuli rossi ai lati di questa, una, due o tre altre piccole sporgenze meno rilevanti, ma pure bene evidenti e dell'aspetto stesso della maggiore.

Di più nell'interno del globulo, anche in preparati che non presentano l' appendice di Maximow, si riscontra, per lo più al centro, una sostanza sotto forma di un piccolo blocco, più o meno angoloso di aspetto più rifrangente.

Qualche volta questa sostanza è suddivisa in due o tre blocchetti e si può vedere talvolta una piccola parte di questa sostanza anche nella maggiore delle appendici di MAXIMOW.

Questo blocchetto non si colora col rosso BORDEAUX, al contrario delle appendici di MAXIMOW, che si colorano istantaneamente (V. fig. 3, tav. XXIV). Prende invece una tinta brunastra col nitrato d'argento (V. fig. 2, tav. XXIV).

Anche nei preparati per striscio nei casi più acuti di avvelenamento si può osservare la presenza di questa sostanza interna raggrumata a blocco. In tali strisci, anche dopo un lungo soggiorno nelle miscele con cloruro d'oro, la sostanza interna raggrumata non reagisce: tutt'al più si ha una reazione parziale attorno al blocchetto.

Sotto un certo aspetto queste sostanze potrebbero avere qualche relazione coi corpicciuoli endoglobulari che SCHMAUCH ha studiato nei globuli rossi del gatto; e probabilmente questo reperto si potrebbe avvicinare anche alle modificazioni morfologiche degli eritrociti descritte da HEINZ. Questo A., come è noto, dimostra negli eritrociti, tanto di rana, come di animali a sangue caldo, la presenza, in seguito all'azione di alcuni veleni, di globuletti più o meno grandi, rotondeggianti, fortemente rifrangenti la luce, senza colore, ma che intensamente si colorano in violetto in presenza di soluzione satura di violetto di metile.

Queste gravi alterazioni dei globuli rossi, ottenute col massimo grado di avvelenamento per azione di una sostanza altamente emolitica come la pirodina, sono di un certo interesse e degne di essere ulteriormente studiate.

CASI CLINICI.

Alla seconda categoria delle mie osservazioni si riferiscono i casi clinici di malati affetti da anemia primaria, o secondaria ad altre forme morbose, e che io ho avuto l'opportunità di studiare per ciò che riguarda il comportamento del sangue di fronte a queste nuove reazioni.

Naturalmente queste mie note, come ho già detto, non hanno che il significato di entrare in un cammino che io mi propongo di continuare, moltiplicando e ripetendo le osservazioni e allargando possibilmente il campo delle ricerche.

Io mi sono studiato di ricercare se eventualmente esistessero dei rapporti tra il sangue di alcuni casi clinici da me considerati e il sangue di animali opportunamente salassati.

Anemia post-emorragica.—Mi pare, così, di poter avvicinare il sangue di animali ripetutamente salassati con il caso di una grave anemica ricoverata nella clinica ostetrica e che giunta a uno stato molto profondo di anemia per emorragie post-partum, presentava caratteri di immaturità del sangue (globuli rossi nucleati, globuli rossi policromatici e globuli rossi a granulazioni basofile, inoltre intensa leucocitosi e aumento nel numero delle piastrine.

Trattato col metodo al cloruro d' oro, questo sangue presenta nei globuli rossi una reazione centrale piuttosto estesa. La struttura finemente fibrillare occupa gran parte del globulo rosso; ha l' aspetto di fibrille più o meno sottili variamente intrecciantesi o disposte parallelamente in un senso trasversale. Tra le fibrille non sono scarsi i granuli, che danno all' insieme un aspetto come di struttura granulo-fibrillare (V. fig. 1, tav. XXV).

Alla periferia del globulo è sempre evidente l'orlo emoglobinico, come una zona sottile, liscia, omogenea.

Sia nella zona emoglobinica, sia nell' interno della reazione centrale è spesso evidente la presenza di uno o due granuli speciali (centrosomi), che si differenziano dagli altri che prendono parte intima con la reazione centrale.

Nei globuli bianchi il nucleo rimane scolorato e il protoplasma presenta la tinta violacea della reazione con l'oro. Il quale fatto sarebbe una prova dimostrativa che proverebbe come la reazione centrale non abbia assolutamente niente a che fare con le reazioni di sostanze nucleari.

Il nucleo dei globuli rossi nucleati si comporta alla stessa

guisa del nucleo dei globuli bianchi, cioè non si colora affatto. Attorno al nucleo scolorato dei normoblasti si vede una sottile zona che presenta l' aspetto violaceo della reazione con l' oro e attorno a questa ancora la zona emoglobinica liscia, splendente.

Questo modo di presentarsi, però, credo avvenga solo nei normoblasti ortocromatici; questo dico per una mia impressione, perchè è difficilissimo con questa reazione, almeno per ora, distinguere le diverse specie di cellule immature della serie emoglobinica. Tale mia impressione mi sarebbe suggerita dalla presenza dell'orlo emoglobinico.

Nel sangue di questa anemica, come pure ho riscontrato però anche in altre forme di anemia, il centrosoma dei globuli bianchi si presenta con notevole frequenza, direi quasi che esso si può riscontrare più o meno evidente nella maggior parte dei globuli bianchi.

Ora in tutta vicinanza del nucleo, ora in pieno protoplasma, ora anche alla periferia del globulo, si può vedere spiccare sul fondo roseo-violaceo del protoplasma il centrosoma, nettamente colorato in nero, sotto forma di uno, o due, o tre granuli neri rotondeggianti, circondati da un chiaro alone; se i granuli sono più di uno, per lo più sono avvicinati, ma possono anche essere posti a una certa distanza fra loro, e allora ciascuno di essi è circondato da un proprio alone chiaro.

Nelle miscele deboli di sublimato e bicromato i globuli rossi presentano una certa resistenza a dare il fenomeno di Maximow: solo una piccola parte di essi porta la sporgenza caratteristica; gli altri sono globuli ben conservati riguardo alla forma, e hanno di caratteristico un aspetto finemente granuloso o spugnoso nella parte centrale.

Qualche volta il corpo di Maximow invece che presentasi come un' appendice rotondeggiante o piriforme, leggermente peduncolata, si presenta come una propaggine di una certa lunghezza, terminante in fiocchetto, direi quasi spumoso.

Nelle miscele di bicromato e cloruro di platino, in tutti o

quasi i globuli rossi si forma la lunetta liscia, splendente, alla periferia, senza l'appendice che fuoriesce; ma mentre in alcuni il resto del globulo è granuloso, in altri, e direi nella maggioranza, è del tutto liscio e trasparente (quasi a dare l'apparenza di una vescicola vuota), tranne un piccolo orlo periferico, pure liscio, ma di diversa rifrangenza.

Nei globuli più granulosi, i granuli non sono fini, minuti, ma piuttosto grossolani e qualche volta piuttosto riuniti a masse angolose.

Un fatto abbastanza curioso è il comportamento del sangue in queste miscele a cui sia aggiunto anche solo qualche goccia di acido osmico. Basta la sola presenza di qualche goccia di acido osmico perchè non tutto il sangue reagisca allo stesso modo di fronte ai liquidi reagenti.

Mentre la maggior parte dei globuli rossi presenta il fenomeno di MAXIMOW nelle miscele deboli di bicromato e sublimato — o presentano le caratteristiche granulazioni e le lunette periferiche nelle miscele di bicromato e clururo di platino — in un certo numero i globuli rossi si presentano lisci, splendenti, come se fossero molto bene fissati senza nessuna modificazione nè di forma nè di struttura.

Questo dipende certamente dal diverso modo di fissazione, ma la cagione della differenza di reazione ci sfugge.

Se si volessero arrischiare delle ipotesi si potrebbe eventualmente pensare alla differente età dei globuli rossi.

Se si potessero accettare come dimostrate le tre varietà in cui distingue il MARCHESINI i globuli rossi e cioè: in forme labili, in forme semilabili e in forme stabili, a seconda del modo come si comportano di fronte a soluzione di ac. osmico 1 °/₀, di emostatici, di estratto acquoso di sanguisuga, o di acqua distillata, forse anche questo potrebbe in parte eventualmente illuminare sulla oscura questione.

Anemie post-malariche. — Tra le diverse forme di anemie che accompagnano stati patologici non si deve trascurare di tener

conto anche delle anemie, che seguono a un' infezione malarica. Le anemie post-malariche si impongono in modo particolare alla nostra considerazione, sia per l'importanza grande che esse hanno per sè stesse, sia anche perchè assumono un certo interesse riguardo alla patogenesi che venne ad esse attribuita da alcuni autori. La causa di alcune delle varie forme di anemie in generale si volle ricondurre a eventuali sostanze emolitiche, o comunque tossiche, che si verrebbero formando in taluni stati patologici.

Così, nel caso particolare delle anemie post-malariche, DIONISI e BIGNAMI spiegherebbero le rapide anemie attribuendole a prodotti tossici delle amebe malariche, i quali avrebbero energiche proprietà emolitiche.

Fin dal 1886 il Prof. GOLGI aveva notato come spesso nel periodo in cui si svolge il processo di segmentazione con maggiore, o minor grado si verifica un'alterazione del colore del sangue (passaggio dal color rosso vivo al color rosso cupo) altera zione che l'autore ammetterebbe causata da un supposto veleno che si renda libero dai parassiti in coincidenza e per effetto della segmentazione.

BIGNAMI e DIONISI trovarono che per mezzo di veleni emolitici (anemizzarono fortemente con pirodina dei cani che tennero in vita per più mesi—3 a 4 mesi) si possono riprodurre lesioni dei vari visceri, che rassomigliano molto a quelle delle anemie post-malariche, specialmente ai tumori di fegato e di milza; pur essendo il reperto ematologico e le alterazioni del midollo osseo nei due casi del tutto differenti.

Nella malaria non si ha mai notevole leucocitosi, come si ha dopo l' azione di veleni emolitici—e nelle anemie post-malariche non è stata evidentemente dimostrata una degenerazione emoglobinemica dei globuli rossi.

Questo sarebbe interessante per l'interpretazione dell'anemia malarica.

Secondo EHRLICH la degenerazione emoglobinemica negli animali superiori sarebbe causata da gran parte e forse da tutti i veleni sul sangue.

Ora, una ipotesi sostenuta riguardo alla malaria vorrebbe attribuire a prodotti tossici dei parassiti malarici una energica azione emolitica. Secondo BIGNAMI e DIONISI contro questa ipotesi starebbe il fatto notato della mancanza nei malarici di una degenerazione emoglobinemica che si ha invece per l' azione di veleni emolitici.

I suaccennati AA. distinguerebbero le anemie post-malariche in normoblastiche (guaribili e inguaribili), anemie progressive gigantoblastiche, anemie progressive da atrofia del midollo ematoblastico e, infine, l'anemia dei cachettici. Queste varie forme di anemia non sarebbero però secondarie esclusivamente all' azione dell' agente malarico, specialmente perchè, sebbene si svolgano dopo questa infezione, pure progrediscono per sè, sebbene cessi la causa a cui sono seguiti.

Di più CELLI, CARDUCCI e CASAGRANDI, in base alle loro ricerche, pur non potendo dare un giudizio definitivo sull'esistenza di una emolisina malarica, emettono però un giudizio di probabilità.

Qualunque sia la causa che le determina, nelle anemie post-malariche, dal punto di vista del reperto ematologico è del reperto anatomo-patologico del midollo delle ossa, noi dobbiamo distinguere con DIONISI e BIGNAMI varie forme:

I tipo: all'esame del sangue alterazioni simili a quelle delle anemie secondarie; normoblasti, leucociti però diminuiti con relativo aumento di mononucleati.

La massima parte di questi vengono a guarigione.

II tipo: all'esame del sangue alterazioni simili a quelle delle anemie perniciose (gigantoblasti, diminuzione dei leucociti con aumento relativo dei mononucleati).

Questi casi sono progressivi fino alla morte.

III tipo: anemia progressiva per mancanza di compenso da parte del midollo. All'autopsia si trova il midollo delle ossa lunghe completamente giallo.

IV tipo: anemia cronica dei cachettici. Si hanno sintomi clinici speciali della cachessia malarica.

All' esame anatomo-patologico si ha una specie di sclerosi del midollo osseo (nelle ossa lunghe il midollo è rosso e aumentato di consistenza), numerosissime cellule giganti, scarsi ematoblasti; scarsissimi i globuli rossi nucleati anche nel sangue circolante, diminuiti i leucociti polinucleati.

Io, dai preparati di sangue di anemie post-malariche, fin qui osservati ho potuto ottenere delle buone reazioni tanto riguardo alla struttura fibrillare, quanto riguardo alla presenza, con una certa quale costanza, dei centrosomi nei globuli rossi (V. fig. 3, tav. XXV).

In un malarico, specialmente, affetto da febbre terzana ho potuto vedere un numero notevole di macrociti che presentavano una fine struttura fibrillare, molto delicata e diffusa a quasi tutto il globulo, verificandosi solo una sottile zona emoglobinica alla periferia.

Nella sottile zona emoglobinica non era difficile vedere qualche speciale granulo nero, che, in confronto coi preparati, fatti col nitrato d'argento, si potevano pure interpretare per centrosomi.

Una questione che mi si è presentata più complessa di quanto arvei potuto pensare è quella della presenza di granuli nei globuli rossi di sangue malarico. Non credo sia il caso che io entri qui nella questione molto discussa del significato da attribuire alle varie specie di granuli descritti dai diversi autori.

Plehn in un suo lavoro sull' immunità, e periodo di latenza della malaria, descrive delle caratteristiche granulazioni e dà delle figure molto suggestive.

Dico subito che questi granuli, che Plehn chiama cariocromatofili, per distinguerli dalle granulazioni basofile che sono tutt'altra cosa, non sarebbero per l'A. che fasi di sviluppo del parassita, che manterrebbe l' infezione nel periodo di latenza.

Questi granuli, come dirò in seguito, io sarei piuttosto indotta a considerarli come i caratteristici centrosomi dei globuli rossi.

Plehn usava di preferenza come colorazione l'ematossilina eosina acida di Ehrlich; trovò molto utile anche l'ematossilina

basica all' allume, e anche il ROMANOWSKI — ZIEMANN. I granuli che l' autore ritiene come parassiti appaiono nei globuli rossi intatti, come macchie rotonde, colorate intensamente coi colori basici, macchie ben delimitate del diametro di $^1/_2$ μ. Qualche volta possono superare un po' il $^1/_2$ μ. Se hanno questa grandezza restano soli o se ne possono trovare anche da due a sei nella stessa cellula. Se se ne trovano parecchi sono già un po' più piccoli.

Caratteristico è che si trovano spessissimo due granuli vicinissimi o accoppiati. La grandezza dei granuli anche nello stesso globulo non è sempre la stessa.

Con un buon ingrandimento e con una buona illuminazione si vede qualche volta uno stretto alone chiaro attorno ai singoli granuli.

Questa veramente potrebbe essere anche una descrizione di centrosomi; e come tali appunto si trovano i centrosomi dei globuli rossi.

Qualche volta pare si rialzino un po' sulla superficie del globulo. Una struttura precisa non si può riconoscere data la piccolezza delle imagini.

Per PLEHN il fatto di trovare in una persona che sembra sana — ma che potrebbe possibilmente avere una infezione malarica, o averla avuta parecchi anni prima — il solo fatto di trovare nei globuli rossi dei granuli rotondi, accoppiati, intensamente colorati coi colori basici, è il segno sicuro che le forme latenti del parassita si potranno sviluppare nell' organismo e che in ogni momento possono venire attacchi di febbre senza l'occasione di una nuova infezione. L'A. afferma che colla stessa sicurezza si può notare la scomparsa dei granuli alla fine dell'infezione.

Le ricerche sul sangue malarico hanno condotto l' A. allo studio dell' anemia malarica. Questi granuli cariocromatofili sarebbero in relazione con lo stato anemico dell' individuo, secondo

PLEHN. Pare che la scomparsa dei granuli prima della febbre sarebbe in relazione con l'infezione, e la loro scomparsa subito dopo la febbre sarebbe in rapporto con la scomparsa dell' infezione. A quest' ultimo momento rlsponderebbe un aumento rapido del contenuto emoglobinico dopo la febbre.

Naturalmente nel globulo rosso si possono colorare con colori basici delle immagini che hanno un'importanza tutta diversa per quanto grandissima sia la somiglianza esterna.

GRAWITZ parla spesso di questi granuli ; egli dimostrò alla Società Medica di Berlino dei granuli basofili , che provenivano, secondo lui, dai nuclei degli eritroblasti, sotto forma di fini punteggiature.

La relazione loro coi nuclei era da escludersi quasi sicuramente ed erano piuttosto considerate come forme di degenerazione; ma si trovavano molte forme intermedie che però non potevano essere raggruppate in modo sicuro.

Per l'apparenza esterna esisterebbe una grande somiglianza con i granuli di PLEHN.

Punteggiature basofile nei globuli rossi del sangue di gravi anemici erano state già osservate da EHRLICH e LAZARUS ; e MARGHIAFAVA li ha visti nella malaria umana e SMITH e ZIEMANN e DIONISI nella malaria bovina.

L' interpretazione di queste forme è molto diversa : gli autori in prevalenza vedono i residui di una scomparsa dei nuclei; LAZARUS e anche ENGEL e altri. EHRLICH in un suo lavoro insieme con LAZARUS dice che i granuli non sono in relazione con i nuclei, ma li considera piuttosto come una degenerazione protoplasmatica. Lo stesso fa GRAWITZ e ZIEMANN della malaria di bue. SMITH e DIONISI e altri credono probabile che si tratti di forme giovani, embrionali, senza pensare che siano nuclei degli eritroblasti.

In un suo lavoro WALKER parla dei granuli in globuli rossi del sangue di malarici Egli insieme con SMITH vedrebbe in questo un segno di una non ancora completa maturazione dei globuli

rossi e metterebbe questo fatto in relazione con la colorazione dei policromatofili.

Secondo PLEHN queste dichiarazioni sarebbero giuste se le cellule granulose di sangue accompagnassero sempre una grave anemia, ma invece si possono trovare anche quando il contenuto emoglobinico è di poco inferiore al normale.

PLEHN cercò la spiegazione di quei granuli in un' alterazione specifica dei globuli rossi del sangue, forse non di natura degenerativa e li mise in rapporto invece con i parassiti della malaria, perchè non li ha mai trovati nelle altre malattie da infezione.

Ora, mettendo in confronto le figure di PLEHN nel suo lavoro sull'immunità della malaria e periodo di latenza (tav. I) e specialmente le fig. 1-2-8-9-10-11-12-13-14-18-19-21-25 e qualche volta anche le 5-6-7-26-27 con alcuni dei miei preparati di sangue trattati con il metodo del nitrato d' argento, risalta subito come si possa essere volentieri indotti ad avvicinare queste due formazioni (granuli di PLEHN e centrosomi dei globuli rossi), e tanto maggiormente quelli che si presentano appaiati, e a detta dello stesso PLEHN, circondati da uno stretto alone chiaro.

Secondo me non sarebbe possibile una netta distinzione tra i centrosomi dei globuli rossi e le figure e la descrizione dei suaccennati granuli che PLEHN interpreta come parassiti malarici. Forse nel sangue osservato da PLEHN più che l' infezione malarica per sè, avrà influito lo stato anemico occasionalmente causato dalla malaria, stato anemico che costituirebbe con molta probabilità un campo favorevole per la dimostrazione dei centrosomi.

Questa mia opinione trova sostegno in NISSLE, che incidentalmente accenna ai lavori di PLEHN; egli pure è venuto nella convinzione che PLEHN ha così dato i centrosomi degli eritrociti almeno nel sangue di malati di malaria.

Per NISSLE specialmente le fig. 15 Tav. I e fig. 3 Tav. II. mostrerebbero chiaramente tipiche forme di centrosomi.

Anche per NISSLE, lo stato anemico sarebbe un ambiente favorevole; egli stesso trova abbondanti i centrosomi in strisci presi da individui appena guariti da un' infezione di tripanosomi.

Come ho già detto, dunque, i granuli nei globuli rossi, interpretati da PLEHN come parassiti malarici nel periodo di latenza (e del tutto diversi dalle granulazioni basofile) sarebbero piuttosto da avvicinare a quelle fini particolarità di struttura dei globuli rossi, descritte come centrosomi.

Anemie da elmintiasi. — Un gruppo di anemie che potrebbero essere causate così da una diretta sottrazione di sangue, come da una azione nociva di sostanze tossiche, aventi un'azione elettiva sui globuli rossi, sarebbe il gruppo delle anemie per elmintiasi.

Si sa che gli ascaridi possono dare con frequenza stati anemici profondi per l' eventuale produzione di sostanze tossiche per opera di vermi. L' anchilostomanemia oltre che per le perdite di sangue piccole, ma pertinaci, provocate dal verme per sè, sarebbe anche causata da sostanze tossiche specifiche. Il botriocephalus latus poi sarebbe causa di un grave stato morboso, caratterizzato in modo speciale da una gravissima anemia, che talvolta assume caratteri di analogia con la così detta anemia perniciosa; questa si spiegherebbe con la probabile produzione, per opera del botriocefalo, di una sostanza tossica speciale, una sostanza lipoide, trovata da SCHAUMANN nell' estratto alcoolico del verme e capace di produrre emolisi. Questa sostanza assorbita dall'intestino, agirebbe come veleno del sangue, provocando distruzione dei corpuscoli rossi.

Meno precise sono le opinioni intorno all'influenza generale delle anguillule. Nella letteratura a me non fu dato di trovare studi portanti ad una decisa affermazione sull' argomento. I casi da me studiati mi porterebbero ad ammettere che anche l' anguillula intestinalis sia capace di produrre un grave stato anemico.

In questo mio modo di vedere ha particolarmente influito

un caso di grave anguillulosi che io ho avuto occasione di osservare in un bambino ricoverato nella Clinica Pediatrica di questa Università.

a) *Anchilostomanenia.* — È ormai generalmente riconosciuto come l' agente di questa grave forma di anemia sia un verme: l' anchilostoma duodenalis, che alberga, talvolta in grande numero, nell' intestino tenue specialmente nel duodeno, dove con uno speciale apparato si nutre del sangue che succhia, dando luogo in realtà a perdite croniche di sangue da parte dell' individuo che l' ospita.

L' anchilostomanemia mentre in qualche modo avrebbe così i caratteri delle anemie postemorragiche, possederebbe anche le note di un'anemia secondaria dovuta alla speciale sostanza tossica suaccennata.

Nei preparati per striscio del sangue di alcuni casi di anchilostomanemia ho potuto osservare:

1° — In preparati colorati col GIEMSA:

Modica leucocitosi con spiccato aumento degli eosinofili, relativo aumento dei mononucleati, scarsi globuli rossi nucleati. Moltissimi globuli rossi sono poco tingibili; si colora in rosso solo la porzione periferica, lasciando scolorita la parte centrale, probabilmente o per mancanza o per attenuazione della sostanza colorante emoglobinica. Piuttosto abbondanti sono le piastrine.

II. In strisci trattati col metodo al cloruro d' oro: nei globuli rossi la zona centrale che si colora debolmente col GIEMSA, non reagisce nemmeno col cloruro d' oro, così che attorno alla zona chiara si ha come una reazione a corona finemente granulofibrillare. La zona globulare periferica dell' eritrocito, ridotta a un sottile orlo si conserva liscia, splendente, omogenea. Negli altri globuli rossi che non hanno zona centrale scolorata la reazione è diffusa a quasi tutto il globulo (V. fig. 4, tav. XXV).

Nel protoplasma violaceo dei globuli bianchi si osservano i caratteristici centrosomi, specialmente evidenti in preparati trattati

con la miscela picrica e nei primi periodi della reazione quando il protoplasma dei globuli bianchi è ancora un po' trasparente.

Nei preparati con elementi del sangue sospesi in liquidi, ho potuto notare il diverso comportamento dei diversi sangui patologici presi in esame di fronte a eguali miscele.

Così nelle miscele deboli di bicromato e sublimato non si verifica quasi il fenomeno di MAXIMOW, mentre con le stesse miscele nel sangue normale, e anche in quello di altre forme di anemia, questo fenomeno si presenta direi quasi in tutti i globuli rossi. Ho provato anche miscele più deboli pensando che la mancata produzione del fenomeno potesse dipendere dalla eccessiva concentrazione del liquido, invece che il bicromato all' 1 $^1/_2$ $^0/_0$ ho usato bicromato all' 1 $^0/_0$ e anche al $^1/_2$ $^0/_0$ e sublimato 1 $^1/_2$ $^0/_0$, ma il fenomeno di MAXIMOW non ho potuto ottenerlo.

Con queste miscele i globuli sono bene conservati riguardo alla forma: hanno forma rotonda, orlo liscio alla periferia; nella parte centrale (per circa la metà della grandezza del globulo) presentano una struttura spugnosa, striata, finemente granulosa ben visibile anche senza aver usato cloruro d' oro.

La miscela 2ª (bicromato 2 $^0/_0$ sublimato 2 $^0/_0$) è, credo, troppo concentrata per lo stato osmotico dei corpuscoli rossi di questa anemia. I globuli si presentano raggrinzati, deformati, accartocciati su se stessi.

Nelle miscele di bicromato e cloruro di platino non è molto evidente la lunetta e i globuli rossi son per lo più granulosi

Questo sangue, in modo speciale, è sensibile all' azione dell' acido osmico; basta la presenza di una goccia di acido osmico, perchè una gran parte di questi globuli si fissi rapidissimamente, pare, così che questi presentino del tutto lisci, splendenti, senza dare nessuna reazione specifica della miscela.

Col metodo al nitrato d' argento si possono mettere bene in evidenza i granuli centrosomi, qualche volta appaiati, qualche volta uno solo in ciascun globulo.

b) *Anemia da anguillula intestinalis.* — In un caso di grave infezione anguillulare che ebbi occasione di studiare in clinica Pediatrica, ho riscontrato una grave forma di anemia. Sebbene, come ho accennato sopra, nulla di preciso in proposito si trovi nella letteratura, mi pare di essere autorizzata, tenuto conto anche del decorso clinico, ad avvicinare questa profonda anemia a quella causata dell' anchilostoma duodenalis. Circa l' influenza patogena di questo verme vi ha disaccordo fra i patologi.

Il NORMAND considerò le anguillule come causa della diarrea di Cocincina; il GRASSI e il PARONA ritennero l'anguillula intestinalis un commensale innocuo. Il GOLGI, in collaborazione col MONTI rilevò gravi fatti a carico del tratto di intestino inquinato dal parassita: distacco dell'epitelio intestinale, caduta o alterazione di parte dell'epitelio delle ghiandole di LIEBERKÜHN e la proliferazione di questo epitelio, tumefazione dei follicoli solitari e infiltrazione diffusa di leucociti tra la muscolaris mucosae e i fondi ciechi delle ghiandole.

Da tutto ciò il GOLGI sarebbe indotto a ritenere che le anguillule non siano commensali innocui, ma abbiano un' importanza patogenetica.

Molto probabilmente tra i sintomi patogenetici potrebbe figurare anche questa forma di grave anemia causata, sia dalla presenza di parassiti in così grande numero, come si potrebbe arguire dalla quantità delle larve eliminate colle feci, sia da una eventuale tossina elaborata dal verme, e che abbia speciale azione sullo stato del sangue.

A proposito di queste controversie sull' azione patogenetica delle anguillule e più precisamente nei riguardi del comportamento del sangue circolante, mi limito a rilevare che io ho verificato innanzitutto il diminuito numero di globuli rossi, una leucocitosi

abbastanza intensa con aumento degli eosinofili e aumento pure dei mononucleati, presenza di cellule immature della serie emoglobinica.

Per mezzo della reazione del Golgi al cloruro d'oro si mette bene in evidenza la zona centrale granulo-fibrillare notevolmente più diffusa che in condizioni normali e che occupa gran parte del globulo rosso.

Nelle miscele deboli di sublimato e bicromato si nota, come nella anchilostomanemia, una straordinaria resistenza da parte dei globuli rossi alla formazione del fenomeno di Maximow. Anche usando soluzioni meno concentrate: (bicromato all'1 %; 0,50 %; 0,25 % — sublimato 0,50 % ; 0,25 %) — si ottiene il fenomeno di Maximow solo in qualche raro globulo, disseminato qua e là, senza che questo costituisca una nota caratteristica del preparato.

Queste miscele invece danno buoni preparati riguardo alla conservazione della forma dei globuli, e nei quali appare bene evidente una fine struttura striata, finemente granulosa, quasi spugnosa nell'interno dei globuli rossi, nella parte centrale, mentre alla periferia è visibile l'orlo emoglobinico liscio, rifrangente. (V. fig. 5, tav. XXIV).

I centrosomi nei globuli rossi si possono mettere bene in evidenza col nitrato d'argento, sotto forma di uno o due granuli, qualche volta più grossi che di norma. Si possono pure vedere nel preparato con questo metodo dei globuli rossi che contengono un numero maggiore di granuli neri (fino a 10–12 e anche più). Tenuto conto del numero si affaccia il dubbio che questi non possano essere centrosomi e si possa trattare di granuli di altra natura. Questa supposizione ritengo fondata e osservo però che i granuli riferiti ai centrosomi (in numero di 2–3) hanno sempre un modo di comportarsi speciale.

Il mio studio non riguarda solo i casi qui accennati. Ho preso in esame anche il sangue di altri stati patologici, tra cui alcuni casi di clorosi e un caso di anemia perniciosa progres-

siva. Sto pure studiando sperimentalmente l' influenza che può essere esercitata dalla presenza di bile introdotta in circolo sia per via endovenosa come per via sottocutanea; e più specialmente nei riguardi di una possibile azione emolitica sui globuli rossi, in rapporto particolarmente alla struttura degli elementi figurati del sangue.

Ma per tutte queste forme morbose devo tenermi per ora ancora in riserbo, desiderando controllare queste con altre osservazioni, tanto più che i pochi casi fin qui osservati hanno condotto alla verifica di qualche particolarità che merita di essere ulteriormente studiata.

Conclusioni.

Riassumendo, in generale, il fatto che si osserva con maggiore costanza, in quasi tutte le varie forme di anemie considerate sarebbe:

I. La maggiore estensione che nel sangue normale della zona centrale di aspetto e di struttura finemente granulo-fibrillare;

II. La presenza costante, più o meno facilmente dimostrabile dei centrosomi, così nei globuli rossi come nei globuli bianchi. Tanto in questi come in quelli posso affermare che i centrosomi sono in numero maggiore che nel normale.

Fra le note che possono valere a differenziare fra di loro le diverse forme di anemia (anemia da sottrazione di sangue oppure da emolisi) si possono pure considerare come esempio le seguenti:

a) nelle emolisi da pirodina si osserva particolarmente la disuguaglianza di reazione della zona centrale nei globuli rossi trattati col cloruro d' oro e la presenza del blocchetto negli eritrociti (in modo particolare dimostrabile nel sangue di gattino).

b) la facilità maggiore o minore con cui si può provocare nelle varie forme di anemia il cosidetto fenomeno di Maximow nei globuli rossi con le miscele di uguale concentrazione. Il più

frequente distacco delle appendici, così che in alcuni preparati si possono verificare in maggior numero questi corpicciuoli rotondeggianti liberi e isolati;

c) il fatto che si può nei globuli rossi trattati con le miscele di bicromato e cloruro di platino provocare, in un numero molto maggiore di globuli, quello speciale stato granuloso che si contrappone allo stato di maggiore omogeneità e trasparenza che si osserva in altri.

Tenuto conto delle esperienze, io posso ritenere che questi fatti potrebbero pure servire come criterio per giudicare della speciale forma di anemia del sangue in esame.

Che se poi alcune volte non si può proprio dire in che consista la differenza tra le caratteristiche di un sangue anemico trattato con un reagente e quello di un' altra forma di anemia trattato con la stessa miscela, pure dall'aspetto d' insieme, come anche per la pratica che si acquista dall'aver esaminato parecchi sangui trattati con quello stesso metodo, si può qualche volta con fondamento ritenere che quel dato sangue in esame appartenga p. es. ad un' anemia post-emorragica piuttosto che ad un avvelenamento da pirodina o ad un' anchilostomanemia.

Questo allo stato attuale delle conoscenze. Io ho viva fiducia che, perseverando, come io mi propongo di fare, nello studio delle alterazioni degli elementi del sangue con la guida e l'aiuto di questi delicati e preziosi metodi di tecnica o, eventualmente, variandoli con opportune modificazioni in rapporto agli speciali stati patologici del sangue in esame, si potranno ottenere dei risultati che varranno a fornire qualche nuovo contributo alla fine struttura degli elementi del sangue in istato patologico con interesse anche dal punto di vista clinico-scientifico.

L'argomento è ad ogni modo molto difficile e nessuno scrupolo di ricerca a questo proposito può ritenersi superfluo.

Bibliografia.

V. Ascoli — La malaria. *Unione Tip. Edit. Torinese,* 1915.

„ — Sul pigmento malarico. *Policlinico,* Vol. XVII, 1910.

A. Bignami e A. Dionisi—Le anemie post-malariche e le anemie tossiche croniche sperimentali. *Dagli atti dell' XI congresso internazionate di medicina,* 1918.

Celli-Carducci e Casagrandi — Primi tentativi di ricerca di una emolisina nella malaria. Roma, 1902.

Dionisi — Sulle variazioni degli elementi figurati del sangue nelle febbri malariche. Roma, *Soc. Editr. Dante Alighieri,* 1901.

Ehrlich und Lazarus — Die Anämie. *Bei Alfred Hölder,* Wien , 1918.

A. Ferrata — Le emopatie. *Casa Editrice Libraria,* Milano, 1918.

P. Foà — Sangue e organi ematopoietici. *Trattato di anatomia patologica,* Torino, 1920.

A. Foti — Contributo sperimentale alla genesi delle piastrine del sangue nell' avvelenamento acuto da pirodina. *Archivio di fisiologia,* Vol. XI, 1913.

C. Colgi — Sulla struttura dei globuli rossi dell'uomo e di altri animali. *Bollett. Soc. Med. Chir.,* Pavia, 1919.

Idem. — Il centrosoma dei globuli rossi del sangue circolante dell' uomo e di altri animali. *R. Ist. Lomb. Sc. e Lett.* Rendiconti, Vol. LIII, fasc. 9, 1920 e *Haematologica,* fasc. III.

Idem.— Di una reazione apparentemente nera degli elementi nervosi ottenuta col bicloruro di mercurio.

Idem.—Sulle febbri malariche estivo-autunnali di Roma. *Lettera a Guido Baccelli,* 1893.

Idem. — Ancora sulla infezione malarica. *Bollett. Soc. Med. Chirurg.,* Pavia, 1886.

C. Golgi e A. Monti—Intorno ad una questione elmintologica. *Ist. Lomb. Sc. e Lett.* 20 marzo 1884 e *Gazzetta degli ospedali,* 6 aprile 1884 N. 28.

M. Heidenhein — Neues untersuchungen ueber Centralkorper und ihere Bezungen zum kern und Zelleprotoplasma. *Archiv für mikroscop. Anat.* Bd. 43.

R. Heinz — Morphologische Veränderungen der rothen Blutkörperchen durch Gifte. *Archiv. für Pathologische Anat. und Physiologie,* Bd. 122, 1890.

Grawitz — Klinische Pathologie des Blutes, 1898.

R. Marchesini — Sulla piastrinosi. *Policlinico,* Sez. pratica , Roma 1920.

E. Marchiafava e A. Bignami — Malaria by Marchiafava e Bignami. *Wood,* Ed. New-York, 1900.

E. Marchiafava e A. Celli — Die Veränderung der rothen Blutscheiben bei Malariakranken. *Fortschritte der Medicin,* 1883. Bd. I, N. 18.

A. Nissle — Ueber Zentrosomen und Delhersche Reifenkernlosen Erithrozyten. *Archiv für Hygiene,* Vol. 61, 1917.

A. Petrone — Morfologia e chimismo dell' emasia. Applicazioni cliniche. *Atti dell'Accad. Gioenia di Sc. at. Nin Catania,* Vol. XII, Serie 4ª. Memoria XIII, 1899.

Idem. — Ultime ricerche sul sangue. *Atti Accad. Gioenia di Sc. Nat. in Catania,* Serie 4ª Vol. XIV, 1901.

Idem. — L' esistenza del nucleo nell' emasia adulta dei mammiferi. Catania, 1897.

Idem. — Ancora poche paroie sull' esistenza del nucleo nell'emasia adulta dei mammiferi. *Atti Accad. Sc. Nat. in Catania,* Serie 5ª Vol. X.

A. Plehn—Weiteres über Malaria Immunität und Latenzperiode. Jena 1901.

Idem. — Die Malaria der Afrikanischen Negerbevölkerung besonders mit Bezug aut die Immunitätsfrage. Jena, 1902.

Idem. — Ueber Malariaimmunität. *Archiv für Schiffs und Tropen Hygiene,* Leipzig, 1906.

C. Sacerdotti — Le piastrine dei mammiferi e il siero antipiastrinico. *Archivio per le Scienze Mediche,* Vol. XXXII, N. 18.

G. Schmauch — Ueber endoglobuläre korperchen in dem Erythrozyten der Katze. *Archiv für Pathologie und für klinische Medicin,* Bd. 157, 1892.

Smith — Note on blackwaterfever. *Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde,* 1898, Bd. XXIV, p. 98.

A. Strumpell — Trattato patologia speciale medica. *Vallardi,* Milano.

H. Ziemann—Ueber Malaria und andere Blutparasiten. Jena, 1898. *Verlag von Gustav Fischer.*

E. L. Walker — A Comparative study of the so-called polychromatophilous degeneration of red blood corpuscles. *The journal of the Boston Society of Medical Sciences,* November, 1899.

Spiegazione delle figure.

Tutte le figure sono state disegnate con la camera chiara di Abbe-Zeiss, all' altezza del tavolino.

TAV. XXIV.

Fig. 1. — Globuli rossi di coniglio anemizzato per ripetuti salassi.
Bicromato-sublimato; nitrato d'argento.
Oc. 8 comp.; ob. 1/15 imm. semiapocr. Koristka.

Fig. 2. — Globuli rossi del sangue di gatto, avvelenato con pirodina.
Bicromato-sublimato; nitrato d'argento.
Oc. 8 comp.; ob. 1/15 imm. semiapocr. Koristka.

Fig. 3. — Globuli rossi di gatto. Avvelenamento con pirodina.
Bicromato-sublimato (miscela debole); colorazione successiva con Rosso Bordeaux.
Oc. 8 comp.; ob. 1/15 imm. semiapocr. Koristka.

Fig. 4. — Globuli rossi. Anemia da anguillula intestinalis.
Bicromato, cloruro di platino.
Oc. 8 comp.; ob. 1/15 imm. semiapocr. Koristka.

Fig. 5. — Globuli rossi. Anemia da anguillula intestinalis.
Bicromato-sublimato; nitrato d'argento.
Oc. 8 comp.; ob. 1/15 imm. semiapr. Koristka.

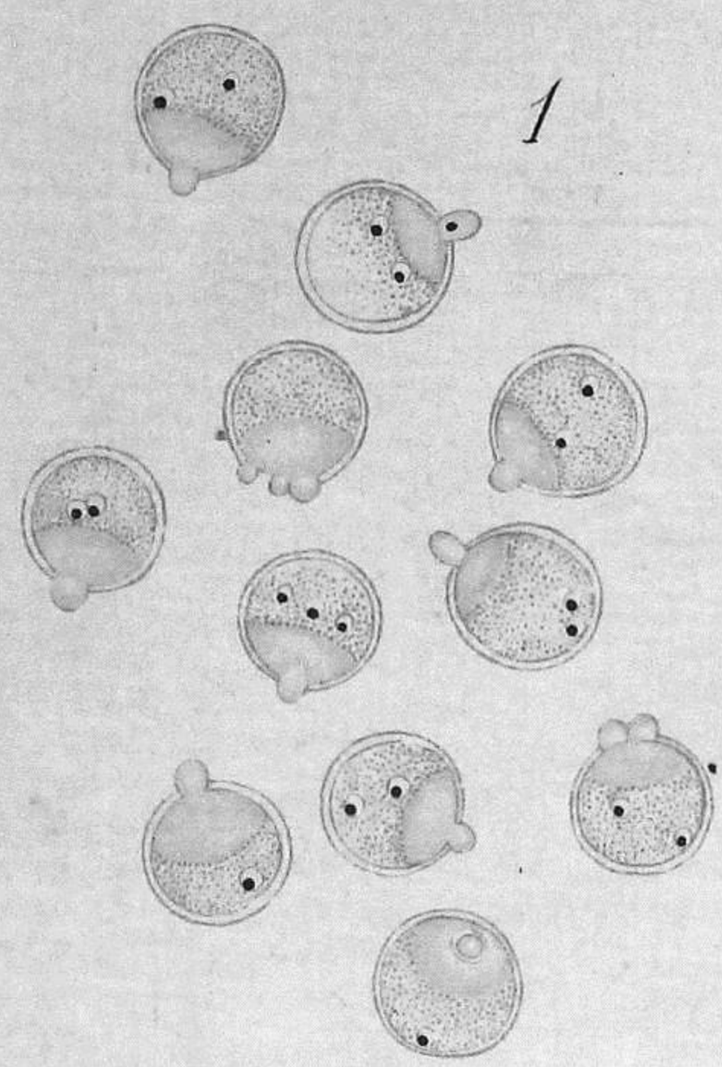
TAV. XXV.

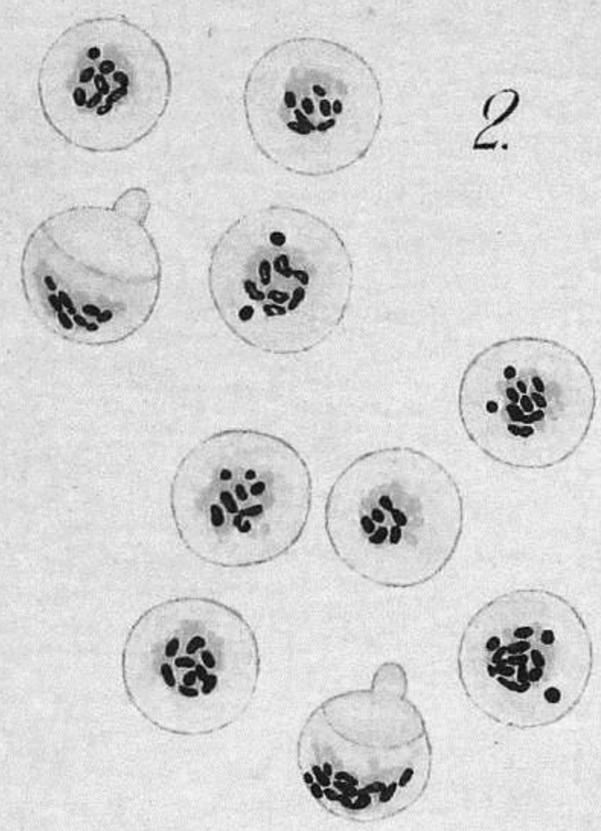
Fig. 1.—Globuli del sangue in un caso di anemia per emorragia post-partum.
Bicromato-sublimato; cloruro d'oro.
Oc. 8 comp.; ob. 1/15 imm semiapocr. Koristka.

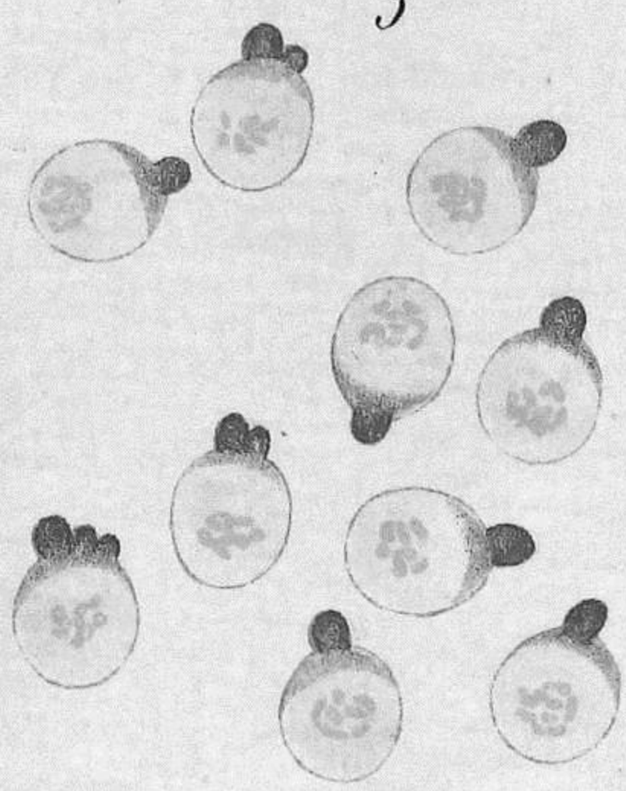
Fig. 2. — Globuli rossi di cavia. Avvelenamento con pirodina.
Bicromato-sublimato; cloruro d'oro.
Oc. 8 comp.; ob. 1/15 imm. semiapocr. Koristka.

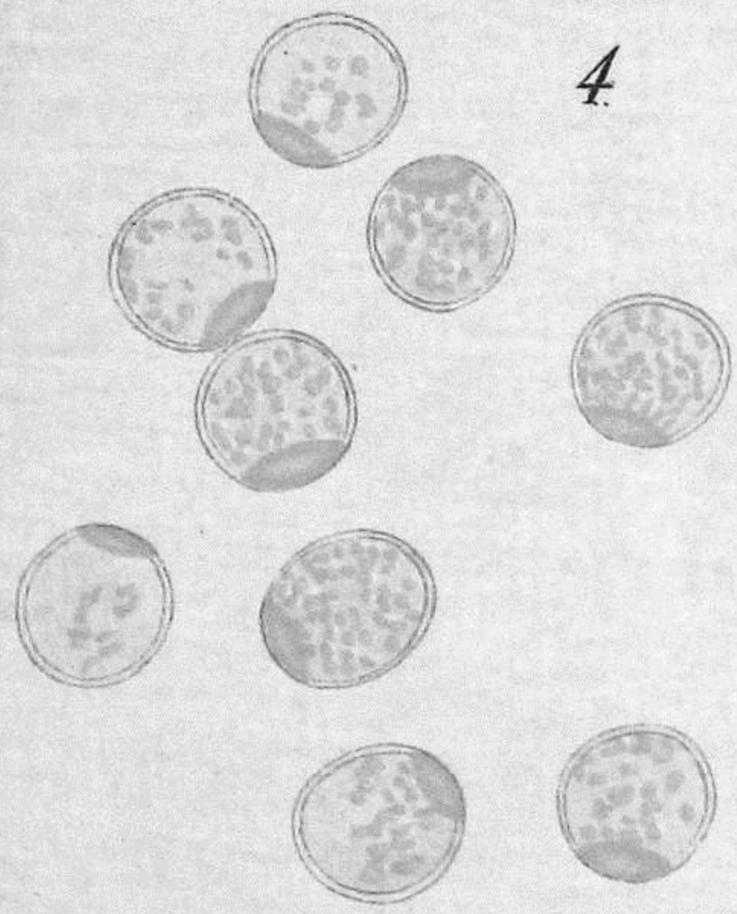
Fig. 3. — Globuli del sangue in un caso di anemia post-malarica.
Miscela picrica.
Oc. 8 comp.; ob. 1/15 imm. semiapocr. Koristka.

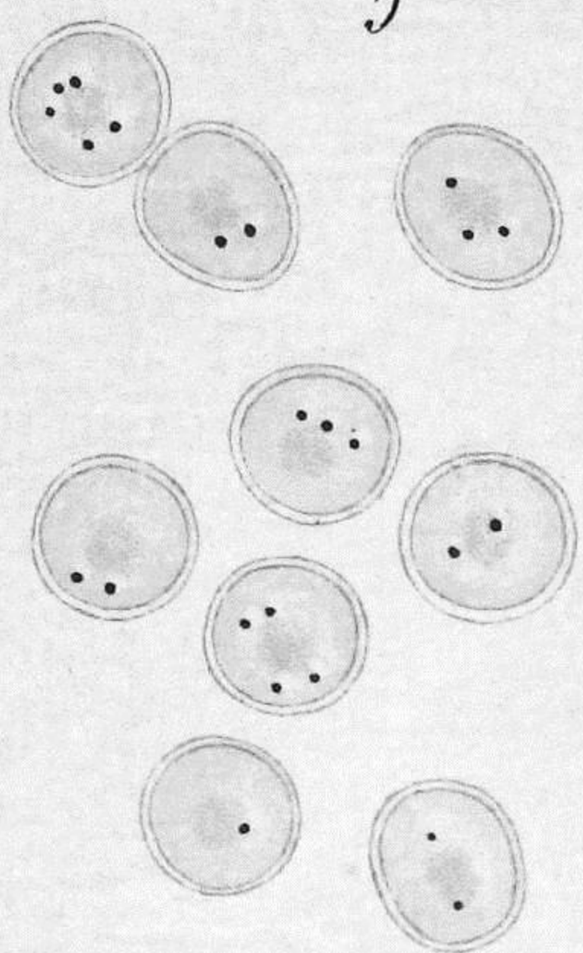
Fig. 4. — Globuli rossi in un caso di anchilostomanemia.
Bicromato-sublimato; cloruro d'oro.
Oc. 8 comp.; ob. 1/15 imm. semiapocr. Koristka.





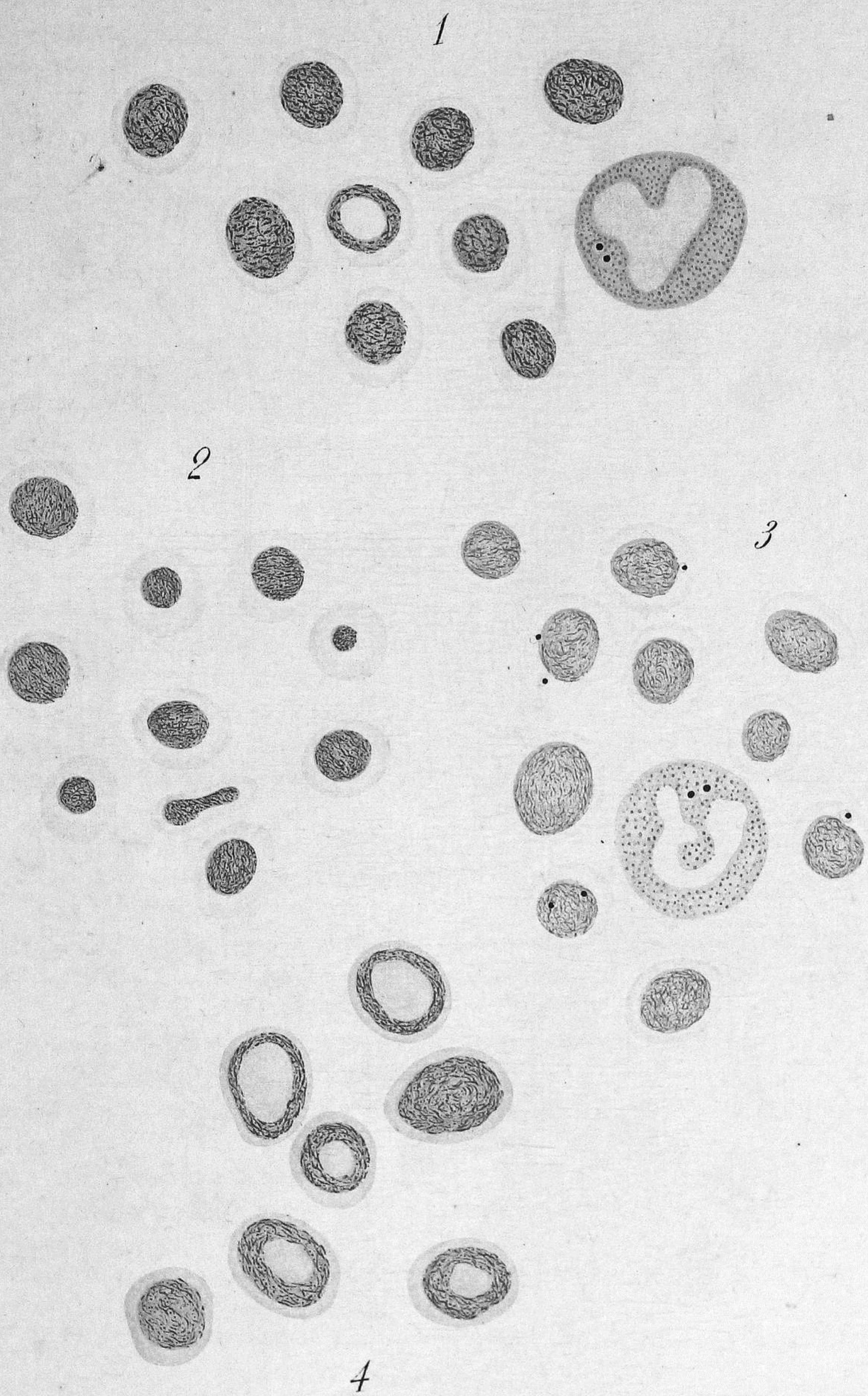






Boccadoro dis.

Lit. Cucchi, Pellegrini, Pierotti & C. Pavia



Boccadoro dis.

Lit. Cucchi, Pellegrini, Pieroni & C. Pavia

Indice dei lavori originali del volume I.

Azzi A. — Sui fattori d'inattivazione del complemento nel sistema emolitico.

Lo stesso. — Azione dei raggi ultravioletti sulla fagocitosi batterica.

Bétancès M. — Relation pathogénique entre les leucémies et certaines dermopathies (avec la planche XI).

Bizzarri A. — Anemia grave leucanemica con reperto di mielosi subleucemica subacuta e di carcinoma gastrico (con la tavola IX).

Castronuovo G. — Piastrine e pseudopiastrine nel sangue circolante (con la tavola XXIV)..

Cattaneo D. — Sulle cellule eosinofile nei processi infiammatori asettici (con la tavola XXIII).

Cesaris-Demel A. — L' endiapedesi nel processo infiammatorio.

Di Guglielmo G. — Megacariociti e piastrine (con le tavole XV - XVIII).

Ferrata A. — Sulla patogenesi e sulla essenza dell'anemia a tipo pernicioso.

Lo stesso e Negreiros-Rinaldi. — Emoistioblasti e monociti nella milza malarica (con le tavole XII - XIII).

Foà P. — Sul linfogranuloma.

Gamna C.—Ricerche e considerazioni sulla costituzione normale e patologica dei globuli rossi (con la tav. XXI).

Gasbarrini A. — Sulla presenza di emoistioblasti e loro derivati nella leucemia linfocitica (con la tavola XIV).

Gaviati A.— Sulle alterazioni morfologiche e degenerative del sangue di animali sottoposti ai raggi X studiate col metodo della colorazione vitale.

Girardi P.—Sulla emolisina dell'emoglobinuria parossistica.-

Golgi C.—Sulla struttura dei globuli rossi dell'uomo e di altri animali (con la tav. I).

Lo stesso. — Sul centrosoma dei globuli rossi (con le tavole XIX - XX).

Grosso G. — Miscele neutrali e colorazione microchimica elettiva e panottica.

Izar G. — Sul metodo di Kaup per la prova della fissazione del complemento nella sifilide.

Lurà A. e Pestalozza C.—L'influenza delle soluzioni clorosodiche sulla cosidetta anafilatossina da batterî.

Martinotti L.—Un caso di plasmatocitomi multipli della vulva (con la tav. XXII).

Moreschi C.—Sul significato e sul valore clinico della reazione Sachs-Georgi per la diagnosi della sifilide.

Paolucci R.—Ricerche sulla formazione di sostanze antibatteriche nel sangue in vitro (con le tavole XXVIII-XXXII).

Perroncito A. — Sulla derivazione delle piastrine dai megacariociti.

Lo stesso. — Sulla derivazione delle piastrine.

Pianese G. — Per una migliore conoscenza dei megacariociti (con le tav. II-VIII).

Sabbatani L. — Osservazioni sui globuli rossi trattati col permanganato di potassio (con le tavole XXVI - XXVII).

Signorelli E. — Il potere complementare del siero durante la proteino-terapia dei morbi infettivi.

Torraca L. — Contributo allo studio delle cellule giganti da corpi estranei per mezzo della colorazione vitale (con la tavola X).

Lo stesso. — L' influenza della narcosi eterea sulla fagocitosi.

Zibordi D. — Su un particolare reperto dei leucociti eosinofili del cane (con la tavola XXV).

AUTORÉSUMÉS—Resumés des Travaux publiés dans le I Volume *(Robert-Tissot)*.

"HAEMATOLOGICA,,

ARCHIVIO DI EMATOLOGIA E SIEROLOGIA

PUBBLICATO DA

A. FERRATA e C. MORESCHI

Redattori: **G. Di Guglielmo e Negreiros-Rinaldi**

L' archivio pubblica:

lavori originali di ematologia morfologica e clinica (sangue, organi ematopoietici, connettivo) e di sierologia in rapporto ai problemi dell'immunità;

recensioni di trattati e monografie della letteratura internazionale.

Le tavole litografiche in nero e a colori vengono eseguite a spese della redazione.

I collaboratori riceveranno gratuitamente 50 estratti di ogni lavoro.

Inviare i manoscritti e i libri per recensione al seguente indirizzo:

A. FERRATA — *Cesare Battisti, 53* — NAPOLI

I fascicoli escono senza data fissa; circa 500 pagine formano un volume.

Prezzo d'abbonamento al volume.

ITALIA L. 50,00 — ESTERO L. 60,00

Inviare cartolina vaglia alla Casa Tipografica Editrice

NICOLA JOVENE & C. — Piazza Oberdan, 13 — NAPOLI